INFLUENCIA RETARDANTE DE LA LUZ SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS (1)

ENRIQUE M. SÍVORI
CLARA PH. RUMI
JORGE R. ALANIZ

El presente estudio representa una breve descripción sobre el tema, en particular de los trabajos realizados en el Instituto de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de La Plata, sobre *Tropaeolum majus*. Las consideraciones generales como la fotoxidación auxínica, el fototropismo y el ahilamiento, han sido tratadas con amplitud en revisiones previas realizadas por diversos autores, por esta razón sólo se citan las conclusiones generales evitando las numerosas menciones bibliográficas. Para mayor información puede recurrirse a: Giese (1968); Hendricks, Borthwick (1963); Mohr (1962) y Smith (1975).

Es evidente que el comienzo de la vida en la superficie de la tierra, está íntimamente ligado a las radiaciones electromagnéticas. En estos momentos son excepcionales los casos en que los organismos desarrollen su actividad en base a una energía que no provenga directa o indirectamente de estas radiaciones y en particular del espectro visible situado aproximadamente entre 400 y 700 nm (RFA). No hay duda al decir que desde los comienzos de la evolución orgánica las radiaciones han ejercido efectos de distinta naturaleza sobre los "filum" en formación, que podían ser: determinantes de su actividad metabólica, indiferentes o perjudiciales. Numerosas líneas filogenéticas deben haber desaparecido por acción de estas radiaciones.

En los momentos actuales las radiaciones (aún fuera del RFA), siguen ejerciendo las acciones fundamentales mencionadas. Por una parte actúan como fuente de energía libre, indispensable para la vida; esta energía da lugar a procesos termodinámicos que en los vegetales comprenden además de las funciones básicas —fotosíntesis y respiración— otros procesos como la morfogénesis y el desarrollo en general. Por otra parte provocan efectos perjudiciales de diversa naturaleza, mientras que numerosas longitudes de onda no manifiestan ninguna acción conocida.

Las radiaciones más perjudiciales son aquellas de onda corta y su mayor o menor actividad depende de la intensidad del flujo. Las distintas capacidades de absorción de los diversos compuestos que constituyen la materia viva como así también la distinta sensibilidad de dichos compuestos hacia la energía absorbida, hace que ellos, las células y los tejidos sean más o menos susceptibles. El protoplasma en general no tolera radiaciones menores de 250 nm. Por otra parte numerosas sustancias pueden actuar como protectores y lo más probable, es que ciertas estructuras les otorguen resistencia a las plantas, así,

(1) Estos trabajos fueron subvencionados por C.A.F.P.T.A. y por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

la luz ultravioleta absorbida en parte por la epidermis, hace que los vegetales superiores que la poseen sean más resistentes a su acción que los unicelulares.

Los efectos de las ondas cortas se manifiestan también en forma indirecta interfiriendo con la acción de los reguladores, por ejemplo los coleoptilos sometidos previamente a luz ultravioleta crecen menos en la oscuridad, en presencia del ácido indolacético (AIA) que aquellos no sometidos a luz.

En lo que se refiere a radiaciones de longitudes de onda mayores a las mencionadas, se conoce desde hace varias décadas que ejercen algunos efectos sobre la actividad de los vegetales. Durante los años veinte, Posterfield y Hanna ya habían encontrado que el bambú y las hojas de maíz crecen más rápidamente de noche que de día.

Son bien conocidas las diferencias que presentan las plantas crecidas en oscuridad con aquellas de la misma especie expuestas a luz. Las primeras son denominadas *ahiladas*, siendo éste el verdadero nombre español, aunque algunos autores las llaman "etioladas" que es la castellanización del mismo término en inglés. Si se trata de una dicotiledónea lo común es que presenten un tallo muy largo y hojas reducidas, prácticamente escamiformes, no sintetizan clorofila, sus células y tejidos están menos diferenciados y el extremo del tallo presenta una curvatura (gancho) en tal forma que la yema terminal está dirigida hacia abajo. Por lo contrario algunas gramíneas desarrollan las hojas y no los tallos. Es de interés aclarar que los vegetales genéticamente albinos (sin clorofila) cultivados a luz, no presentan características de ahilamiento sino de plantas normales.

El efecto de la luz sobre una planta implica por una parte, procesos de inhibición (longitud del tallo) y por otra el desarrollo de ciertos caracteres como mayor diferenciación de tejidos, crecimiento de las hojas, síntesis de clorofila, etc. En ningún caso estos procesos son difusibles y los estudios los han ligado a la presencia de un pigmento (fitocromo), a las auxinas y a la producción de etileno. El crecimiento de las hojas escamoides de las plantas ahiladas está determinado por la luz roja (660 nm) cuya acción es revertida por el rojo lejano (730 nm). Este comportamiento indica que por lo menos en parte, es dependiente del fitocromo que controla numerosos procesos en los vegetales. Pero el mecanismo no está totalmente aclarado ya que se sabe que también interviene la indolacético oxidasa y compuestos fenólicos que influyen sobre su actividad.

La inhibición del crecimiento del tallo que en algunos casos se hace extensiva a otros órganos, representa una reacción general de las plantas hacia la luz. Entre otras causas, esta acción de la luz sobre el crecimiento se ha relacionado con las hormonas, en particular con las auxinas. Una de las acciones más características de estos reguladores es el agrandamiento celular que implica un aumento irreversible de su volumen. Lo común, en los ápices, es que este agrandamiento se produzca en la dirección del eje del tallo, resultando en consecuencia un alargamiento que comienza a producirse a pocos micrones del meristema apical y sólo bajo los efectos de las auxinas provenientes de dicho ápice, tanto en la parte aérea como en la raíz.

Desde el siglo pasado, especialmente a partir de los trabajos de Darwin, se conoce que numerosas plantas se curvan hacia un foco luminoso (estímulo) conformando el fenómeno que se denomina fototropismo. Los tropismos están determinados por procesos de crecimiento, representando así un crecimiento diferencial. Numerosos estudios han vinculado este proceso al efecto de ciertas longitudes de luz sobre el contenido de auxinas, a la reacción de los tejidos a las mismas y a la inhibición provocada por el exceso auxínico relacionado con la producción de etileno.

La destrucción del ácido indol acético (AIA), la auxina más extendida entre los vegetales, es un proceso general. Por una parte ocurre a través de una reacción de oxidación enzimática muy estudiada, pero aún no totalmente esclarecida. Por otra, y relacionada con la luz, se produce una oxidación en la

cual interviene un fotoreceptor, la riboflavina. Un mol de O_2 es incorporado por cada mol de AIA oxidado, con la utilización de un flujo luminoso del orden de millones de ergios·cm^{-2}. Los productos de la descomposición del AIA son varios (Stell, 1965) algunos de los cuales son inhibidores del crecimiento. No obstante últimamente se ha puesto en duda que la fotodestrucción del AIA que se realiza "in vitro" realmente ocurra "in vivo", atribuyéndose el fototropismo a otros mecanismos.

En el caso del coleoptilo, el aumento del flujo unilateral de luz, produce un aumento correlativo de la curvatura hasta un máximo de 1000-5000 erg·cm^{-2}. Esta diferencia con el flujo requerido para la fotoxidación (millones erg·cm^{-2}) ya indica que se trata de dos mecanismos distintos.

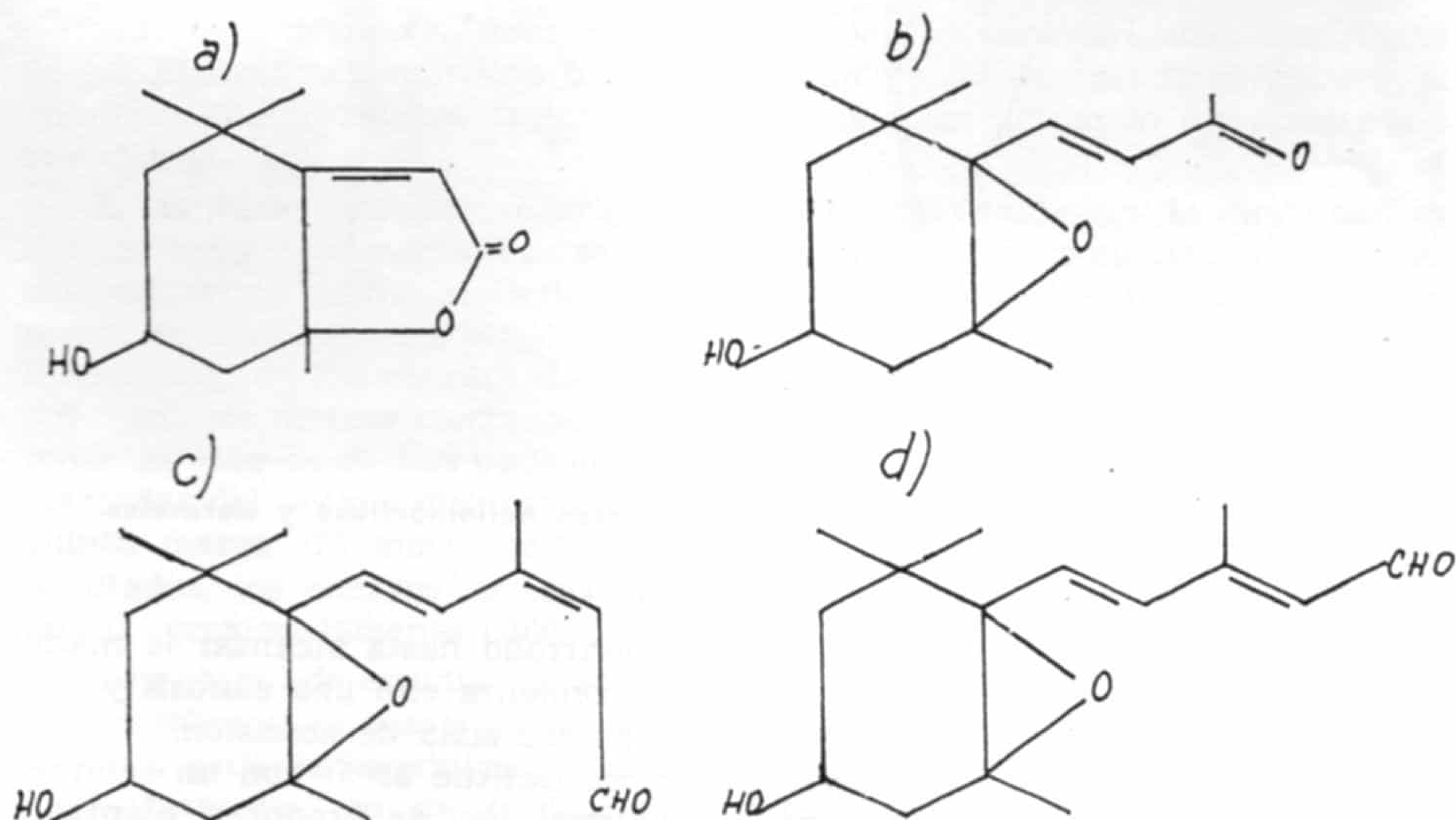
Es evidente que el efecto inhibitorio del crecimiento que la luz produce en los procesos fototrópicos, cualquiera sea el mecanismo de acción, puede generalizarse si la luz no incide sólo unilateralmente determinando la disminución del crecimiento de toda la planta.

El efecto de la inhibición lumínica que como hemos mencionado muy someramente se produce a través de diversas funciones ligadas o no entre sí, se encuentra relacionado con la actividad de numerosos compuestos que actúan particularmente sobre el alargamiento celular, acelerando, retardando, inhibiendo o prolongando el proceso. Entre estos compuestos encontramos los mono y polifenoles que aumentan y disminuyen respectivamente la oxidación del AIA.

Ultimamente, se está desarrollando otra línea de trabajo relacionada con el efecto inhibidor de la luz que ha dado lugar al descubrimiento de compuestos de la familia del ácido abscísico.

Taylor y Smith (1967) encontraron que la fotoxidación *in vitro* de la violaxantina, produjo un fuerte inhibidor de la germinación de semillas de *Lepidium* sp. (cress). Estudios posteriores realizados por Taylor y Burden (1970) indicaron que se trataba de una mezcla de dos isómeros a los cuales denominaron xantoxina.

Una de ellas, la cis-transxantoxina posee una actividad semejante al ácido abscísico. La otra, la trans-transxantoxina es más débil. Los autores consideran que si bien aún no se conoce su papel fisiológico, es evidente que los carotenoides poseen importancia en la regulación del crecimiento. Estos inhibidores han sido encontrados en arveja enana, plántulas de trigo y *Urtica dioica*. No son ácidos (Anstis, Friend y Gardner, 1975) y se forman a partir de violaxantina desecada con sólo 15' de iluminación, que da lugar a cuatro

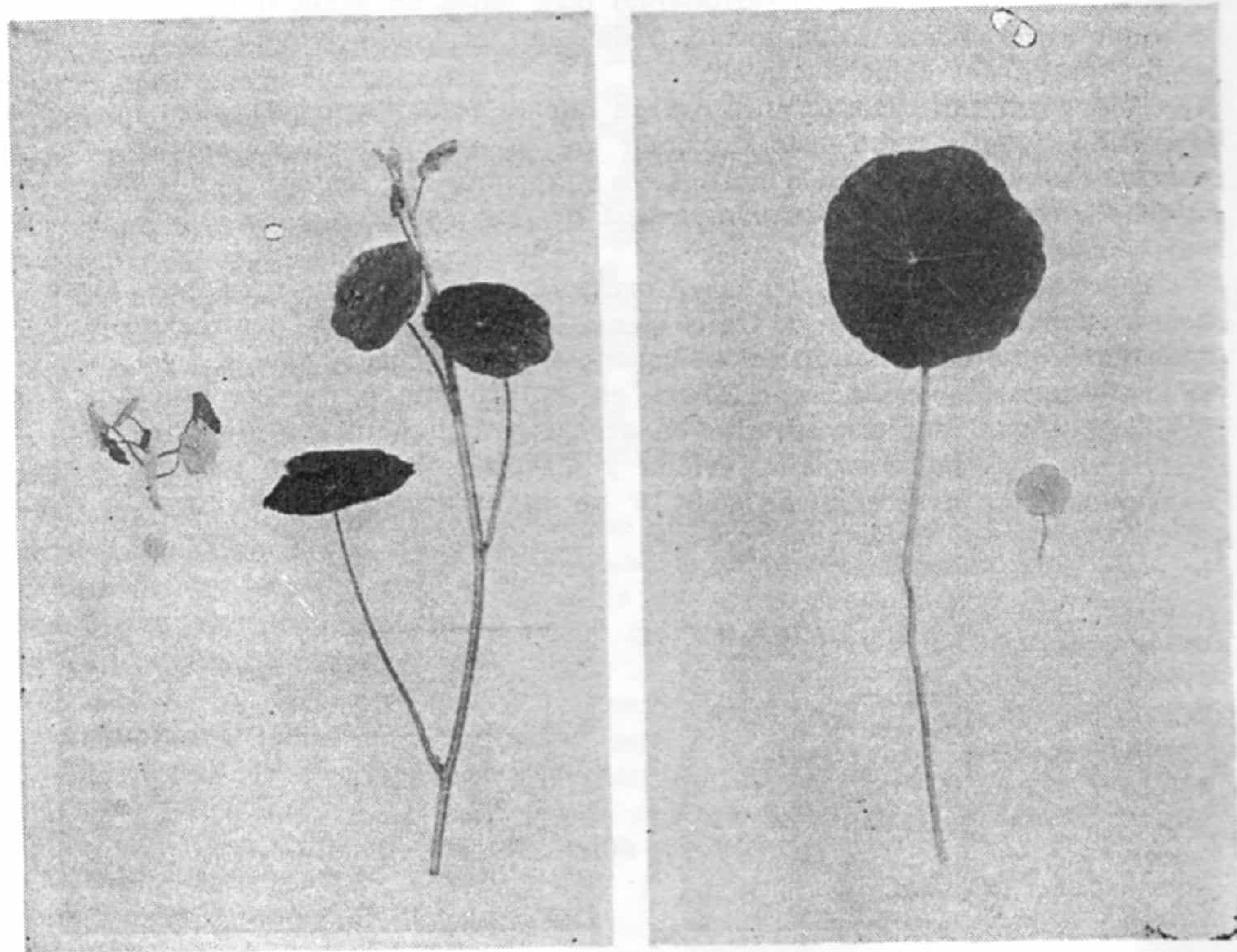


componentes principales, denominados: loliolida (a), buterona (b), cis-trans xantoxina (c) y trans-trans xantoxina (d).

Anstis et al. 1974 encuentran que el crecimiento de arveja enana se inhibe completamente al tercer día de iluminación con luz roja y que la concentración de cis-trans-xantoxina alcanza un máximo en este mismo lapso. Los tratamientos con luz roja también causaron un aumento de las concentraciones de violaxantina, ácido linoleico, peroxidasa, lipoxigenasa y decoloración de carotene.

Trabajos en Tropaeolum majus.

Tropaeolum majus es una especie sumamente sensible a la luz solar directa. Crecida en oscuridad adquiere los caracteres de una planta ahilada con tallos y pecíolos largos y láminas foliares reducidas con ausencia de clorofila. Cuando recibe luz solar indirecta a la sombra de otras plantas o en un sombráculo, adquiere un crecimiento vigoroso, un color verde intenso, los tallos rastreros se prolongan en forma indefinida, los pecíolos suelen superar los 60 cm de longitud y las láminas alcanzan un diámetro de 15 cm. Es de hacer notar que los pecíolos crecen por la actividad de un meristema intercalar adyacente



Fotografías de brotes y hojas de plantas heliomórficas y normales.

a la lámina. Las hojas evolucionan en su desarrollo hasta alcanzar la madurez para pasar luego al estado de senectud que comienza con una clorosis y terminan muriendo sin desprenderse, ya que no poseen zona de abscisión.

Cuando las plantas crecen bajo sol directo (latitud 35°5) con un suministro abundante de agua por un sistema de subirrigación, se producen plantas pequeñas con tallos erectos que no suelen superar los 30 cm de longitud, de

entrenudos cortos con una profusa floración cuando ha alcanzado el estado reproductivo. Las hojas evolucionan muy rápidamente alcanzando su madurez en un plazo mucho más breve que en las plantas normales. El color de las hojas nunca llega a ser de un verde intenso. Las plantas tienen una consistencia más rígida y un peso seco mayor, de aproximadamente 16-17 % en comparación con el de las plantas normales que es del orden de los 11-12 %.

Este tipo de plantas ha sido denominado heliomórfica (Rumi y Carpinetti, 1975). El grado de heliomorfismo puede variar, dependiendo de la insolasión según la época del año y posiblemente de otros factores como temperaturas y disponibilidad de agua; Rumi y Carpinetti (trabajo a publicar) han estudiado en forma comparativa el crecimiento de hojas de plantas normales y heliomórficas. Encuentran que la velocidad de crecimiento y el tamaño de las hojas, desde el momento del despliegue foliar hasta 2 días después del mismo son similares. Desde este momento el crecimiento de las hojas de las plantas al sol disminuye significativamente con respecto a aquellas mantenidas a la sombra. Este fenómeno produce un acortamiento de la fase exponencial del crecimiento como también una reducción del período del desarrollo foliar, acortando su periodo de vida (gráfico I). Las hojas con cierto grado de crecimiento también son afectadas cuando se exponen a la luz solar. Se interpreta que la luz actúa sólo después de iniciado el despliegue de la lámina y que la duración de la actividad meristemática da por resultado un menor número de células totales como ha quedado demostrado a través del estudio anatómico de las hojas.

Se ha observado que el número de hojas y flores de las plantas heliomórficas no es inferior al de las plantas normales y que ensayos orientativos sobre filocronos (tiempo transcurrido entre la aparición de una hoja y la siguiente) no mostraban diferencias significativas entre ambos tipos de plantas.

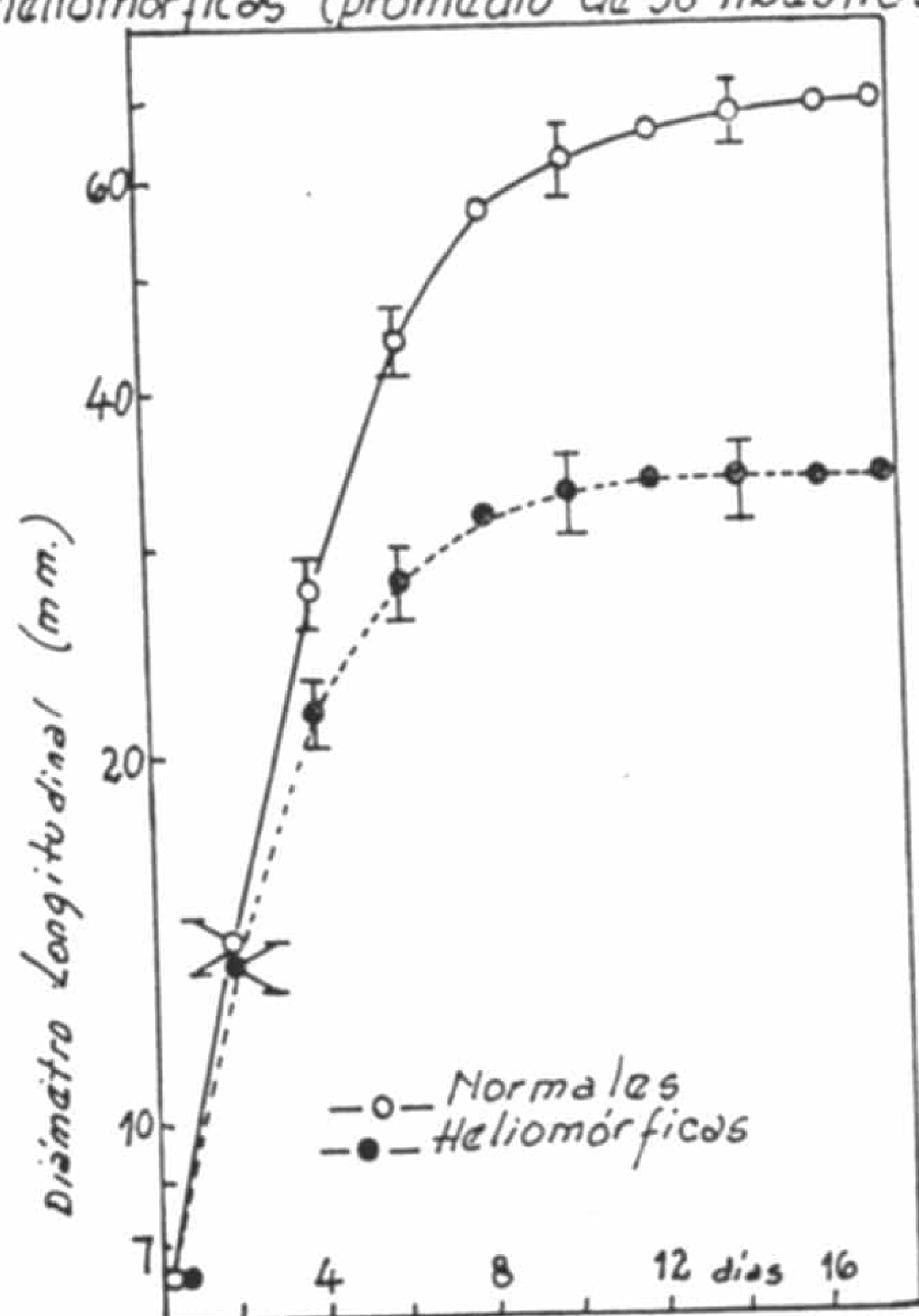
Es posible que el comportamiento de los ápices de los tallos sea similar al de las hojas, es decir, que la zona del extremo del meristema apical sería igual que en las normales, donde ya se conformarían los primordios foliares y en consecuencia los nudos, mientras que la zona subapical sería más breve —o faltaría—. *De esta manera el número de hojas emitidas es normal y el número de células en el tallo es menor.*

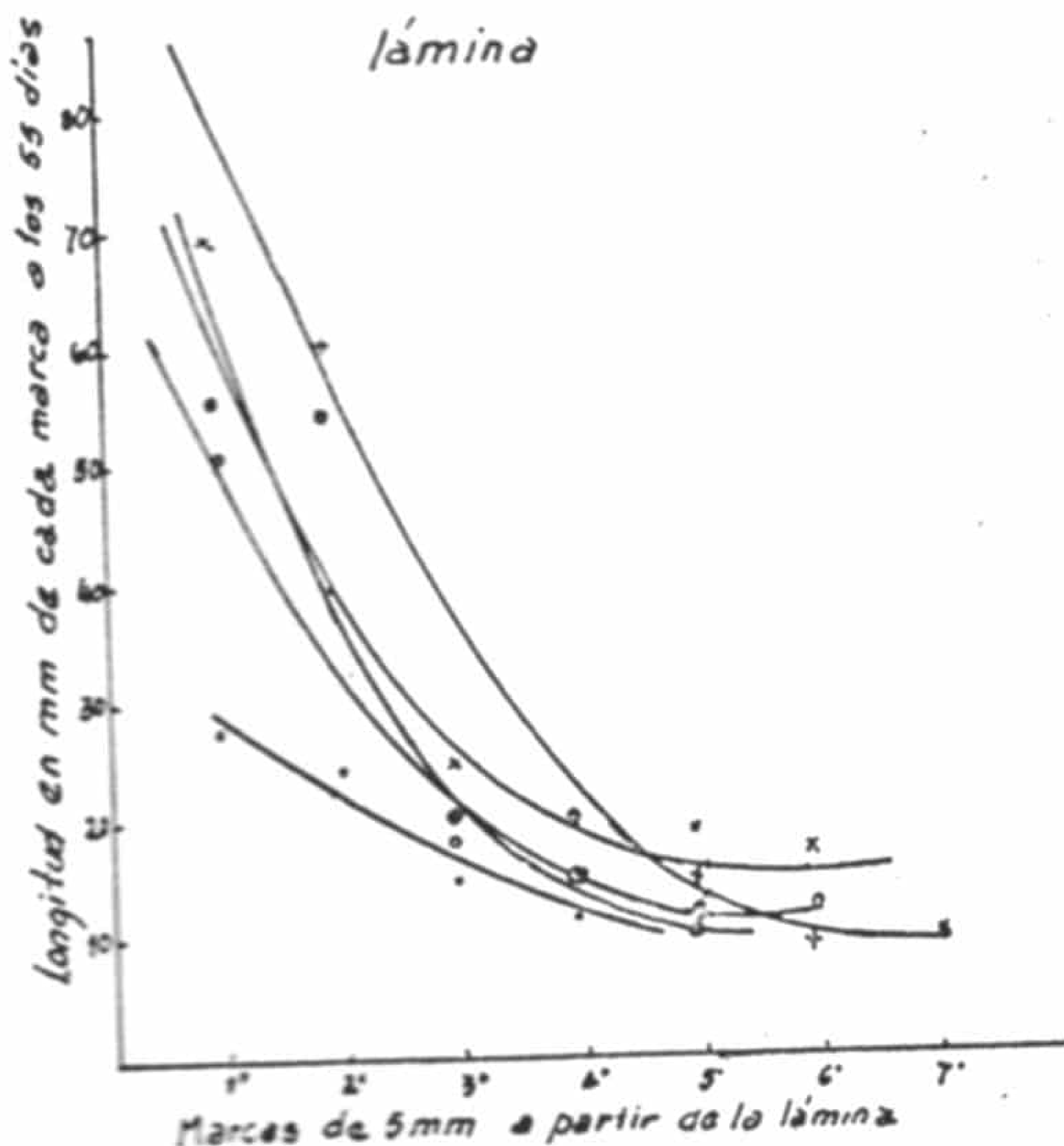
Cuando el proceso de heliomorfismo ha alcanzado cierto grado de desarrollo, el estado deficiente de las plantas, en particular de las hojas determina una pobre nutrición del ápice y raíces que suelen terminar en alguna circunstancia con la muerte de la planta.

Actividad meristemática: Es evidente que las características mencionadas de las plantas heliomórficas son la expresión de diferencias fisiológicas y bioquímicas adquiridas por influencia de la luz solar actuando directamente sobre el vegetal.

Estas características se originan fundamentalmente en la actividad meristemática y debe puntualizarse que el tamaño celular no es afectado, lo que ha sido observado en hojas, (tejido en empalizada) y pecíolos. Se consideró conveniente en consecuencia, estudiar ciertas funciones fisiológicas en los meristemas intercalares de los pecíolos. La localización del meristema intercalar se realizó por medio de marcas efectuadas a 5 mm de distancia entre sí a partir de la lámina. Al cabo de 55 días pudo observarse que el crecimiento de las diversas zonas marcadas del pecíolo disminuía a medida que se alejaban de la lámina hasta la quinta marca (25 mm) donde ya habían dejado de crecer. A partir de estos resultados, los ensayos se realizaron con el primer segmento de 5 mm que creció aproximadamente 1.300 % de su longitud original (Gráfico II).

Con objeto de estudiar la actividad del meristema y de los factores que influyen sobre él se desarrolló un método similar al del coleoptilo de avena para medir la actividad auxínica. En este caso se toman pecíolos de *Tropaeolum majus* no mayores de 7 cm de longitud y se cortan con una "guillotina" especial segmentos adyacentes a la lámina de 5 mm de longitud. Estos segmentos se colocan





en cajas de Petri con 10 ml de una solución buffer de ácido maleico que se mantienen en estufas a 27ºC y en oscuridad. A las 48 horas se mide la longitud de los segmentos con un ocular micrométrico y los resultados de los tratamientos se comparan con una solución patrón.

El crecimiento de los segmentos está en relación inversa a la longitud del pecíolo y es óptimo a 27ºC. Sobre él influyen las temperaturas y las condiciones de luminosidad sufridas por las plantas, previas al ensayo, siendo óptimas en este caso de 20ºC y oscuridad respectivamente. También influyen las láminas foliares y si éstas han estado sometidas a luz, siendo las condiciones óptimas la presencia de láminas en oscuridad que inducen un crecimiento de los segmentos de 24,7% (Sívori, Esponda y Rumi, 1963).

Actividad respiratoria: A pesar de que el efecto de la luz solar directa puede producirse por medio de sustancias activas, es evidente que los cambios finales se traducen en el metabolismo general de la planta como cambios en el contenido de hidratos de carbonos y proteínas o en funciones básicas como la respiración. En consecuencia se consideró de interés medir la actividad respiratoria de ambos tipos de plantas. Debe puntualizarse que el pH es diferente, siendo el de las plantas heliomórficas de 5,7 y el de las plantas normales de 6,7.

La actividad respiratoria se midió en segmentos de pecíolos utilizando un microrespirómetro de Warburg y una solución buffer de ácido maleico de pH 5,2 y sacarosa al 2 %; la temperatura fue de 30º C y se realizaron varias determinaciones en períodos de 20 minutos. Cada vasito contenía 150 segmentos de 3 mm de longitud y 2 ml de la solución buffer. En forma paralela se determinó el peso seco de segmentos correspondientes a ambos tipos de plantas.

Los resultados se exponen en el cuadro I donde los valores se expresan en $mm^3.gr^{1-}\ h^{-1}$ (Sívori y Rumi, 1971).

CUADRO 1

Oxigeno absorbido y anhídrido carbónico emitido por segmentos de pecíolos de plantas de *Tropaeolum majus* heliom. y normales.

TIPO DE PLANTA	Gas	mm3/g peso seco	Cociente resp $\frac{O_2}{CO_2}$
Normales	CO_2 liberado	4067	0,91
	O_2 absorbido	4461	
Heliomórficas	CO_2	1951	1,08
	O_2	1804	

Sobre la base del peso seco el intercambio gaseoso ha sido mucho más intenso en las plantas normales que en las heliomórficas. En lo que se refiere al CO^2 esta diferencia alcanza un valor algo superior al 100%, mientras que el oxígeno se acerca al 50 %.

Si tenemos en cuenta que las plantas heliomórficas tienen aproximadamente un contenido proteico del 50 % de las normales y si referimos los valores a dicho contenido, el CO^2 liberado por las heliomórficas se aproxima al de las normales. El CO_2 emitido y el O^2 absorbido se reflejan en el cociente respiratorio, que en plantas normales es inferior a 1, mientras que en plantas heliomórficas es superior a 1. Es evidente que si los procesos respiratorios varían, será factible encontrar diferencias en algunas de las reacciones que los componen como así también en los contenidos de los componentes de la glicólisis y del ciclo de Krebs.

Crecimiento de segmentos de pecíolos inducido por AG y AIA.

La actividad del meristema intercalar de los pecíolos está afectada en las plantas heliomórficas como se deduce de su lento crecimiento. Se consideró que entre los factores que inciden sobre su actividad se encuentran hormonas como el AIA y la giberelina A_3 (GA_3). En base a la prueba biológica descripta anteriormente se ensayó la actividad de los meristemas en segmentos de pecíolos de 5 mm con el agregado de las hormonas mencionadas. Los resultados pueden observarse en el gráfico III (Sívori y Rumi, 1960).

Estos datos indican que ambas hormonas intervienen en la actividad del meristema intercalar y en el peciolo el AIA probablemente provenga de la lámina foliar. La curva producida por concentraciones crecientes de AIA indican una actividad semejante a la de los coleoptilos con un decrecimiento cuando el nivel supera las 10 ppm. La reacción aumenta con el estado de heliomorfismo y en algunos ensayòs con AIA solo, se ha superado el 40 % del crecimiento sobre el testigo. En el gráfico IV se observa que el AG no produce prácticamente efecto cuando se aplica solo. El AIA aumenta el crecimiento a cifras del orden del 25%

GRAFICO III

Crecimiento de segmentos de pecíolos con 1 ppm de AG y distintas concentraciones de AIA

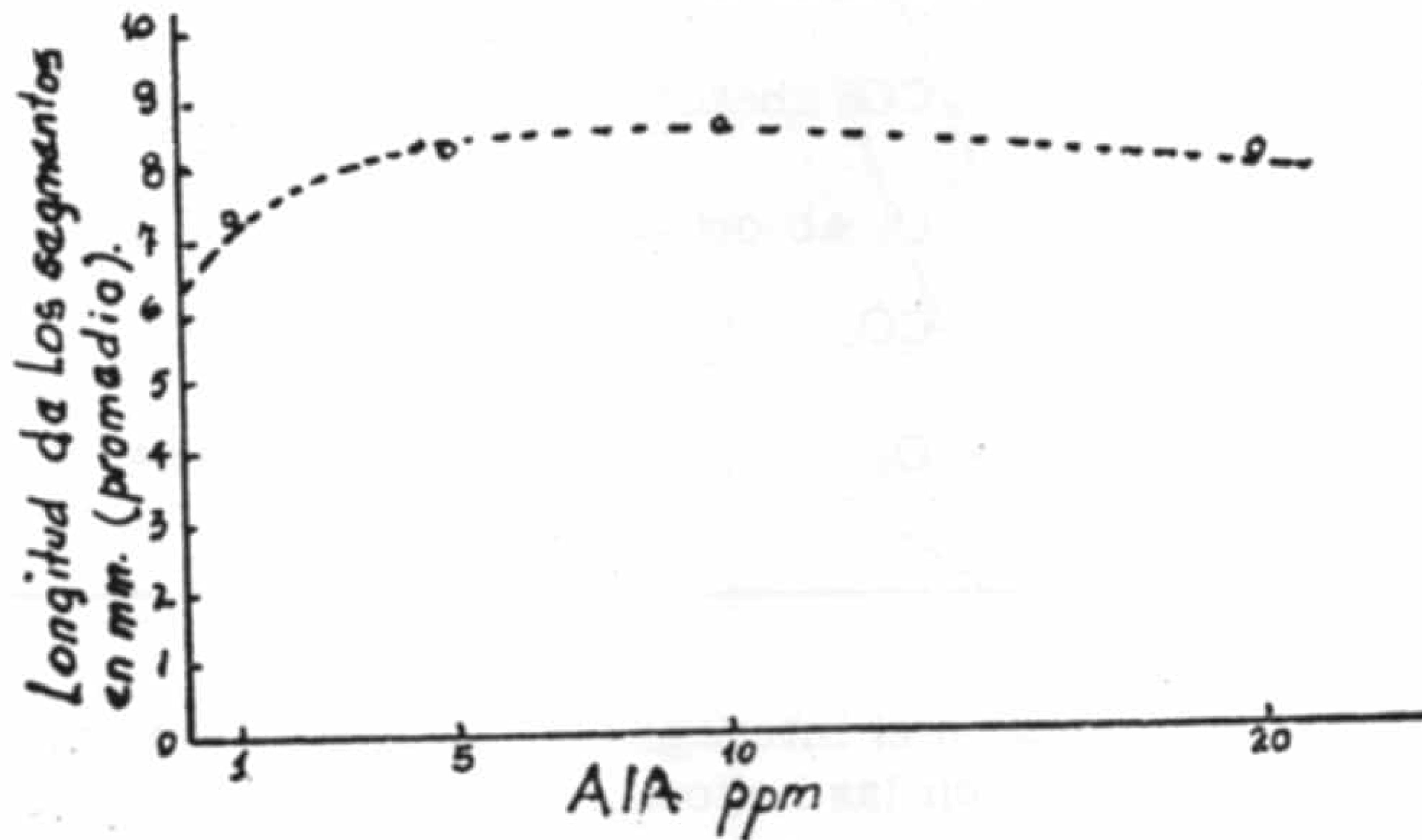
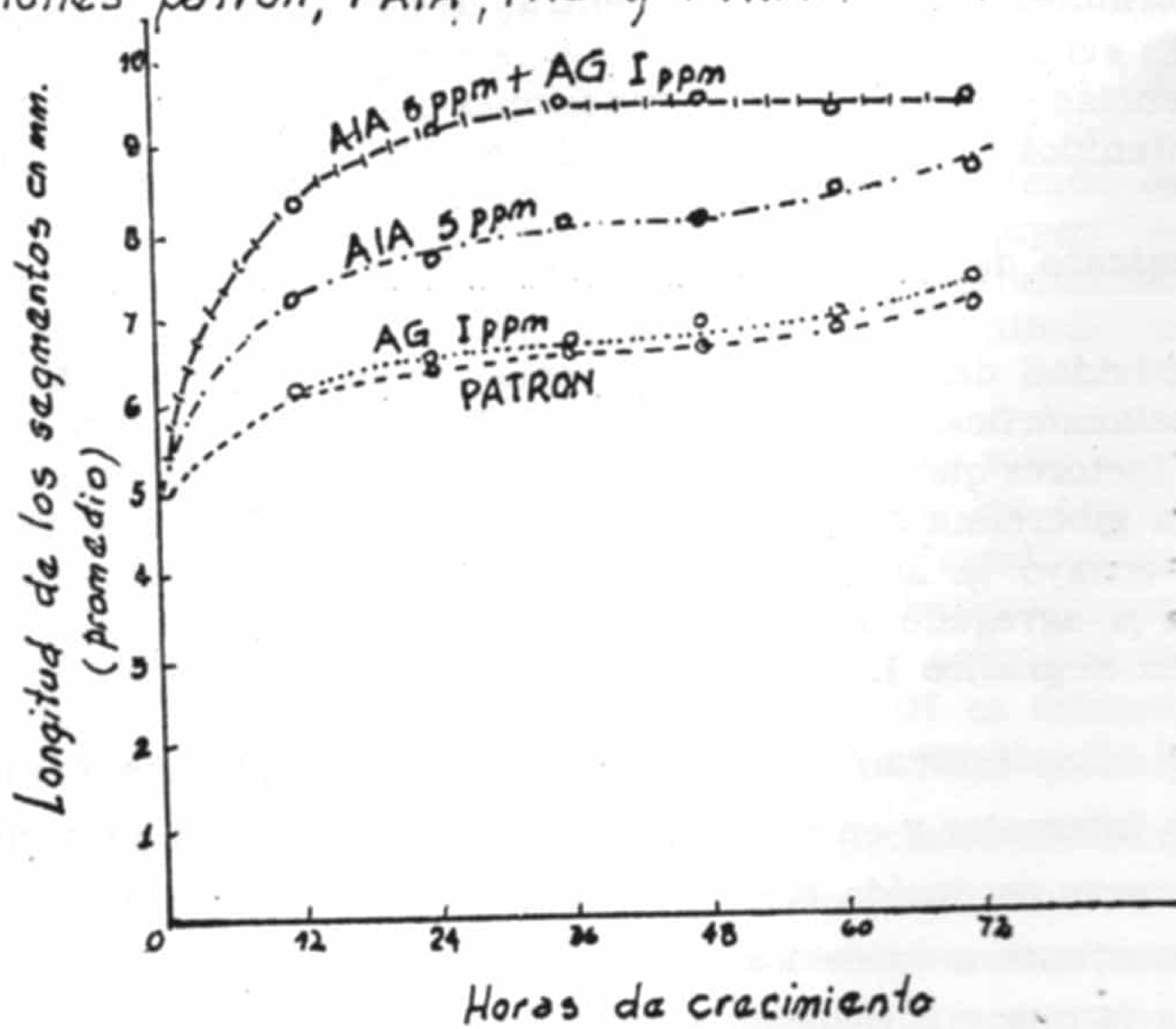


GRAFICO IV

Crecimiento de segmentos de pecíolos en soluciones patrón, + AIA, + AG y + AIA + AG .-



y la combinación de ambos manifiesta un sinergismo que prácticamente duplica el crecimiento. Esto indica que la actividad del AG dependen de la presencia del AIA y es evidente que la integración AIA-GA_3 se produce por un mecanismo distinto a aquel por el cual AIA sólo provoca el crecimiento de los segmentos de pecíolos. También, según Brian y Hemming (1957), el modo de acción del GA_3 es diferente al del AIA aunque de alguna manera son interdependientes. Estos resultados ligan el efecto de la luz solar directa con la actividad hormonal. Por las razones mencionadas se consideró de interés determinar el contenido natural de los reguladores de ambos tipos de plantas. Las extracciones se hicieron según Peach and Tracey (1955) con modificaciones de Sirois (1963).

Los resultados indican que no hay diferencias de importancia en el contenido auxínico entre ambos tipos de plantas no obstante la reacción dispar al agregado de estas hormonas. Ello indica que la reacción diferencial podría deberse a la presencia de inhibidores (Sívori y Rumi, 1971).

Inhibidores:

Se ha estudiado la acción de los siguientes inhibidores sobre el efecto auxínico: la hidrazida maleica; el ácido transcinámico; el 2,4 dinitrofenol y el ácido Iodoacético (Sívori y Rumi, 1966) Todos ellos manifestaron una acción similar a la que ocurre con coleoptilos que crecen bajo la acción del AIA pero la hidrazida maleica y el ácido Iodacético actúan en forma diferente según se trate de la acción del AIA solo o de la interacción AIA–GA_3. Esto corrobora que existen dos mecanismos distintos de crecimiento inducidos por las hormonas, uno en que el AIA interviene directamente y el otro en que es necesaria la presencia del AIA para que la GA_3 desarrolle su actividad. De acuerdo a los resultados obtenidos parece no existir diferencias fundamentales en el contenido auxínico de los extractos entre los dos tipos de plantas.

Como dato complementario se midió la actividad de la indol acético oxidasa (AIA-asa), trabajando con segmentos de pecíolos adyacentes a la lámina y con extractos proteicos. El método seguido fue el de Straus y Gerding (1963). El contenido de AIA se realizó por colorimetría según Gordon y Weber (1951) utilizando un espectrofotómetro Beckman DU. Los resultados se exponen en los gráficos V y VI (Sívori y Rumi, 1971).

Como puede observarse los segmentos de pecíolos de heliomórficas poseen actividad inicial de AIA-asa que desaparece a la hora y media de haber sido colocados en la solución con AIA a 19 mg-l. Las correspondientes plantas normales inicialmente no manifiestan dicha actividad pero comienzan a desarrollarla despuès de una hora y media de iniciado el ensayo y aumenta luego en forma creciente. Ello se debe a que, como ya ha sido demostrado, se trata de un sistema enzimático adaptativo.

Los segmentos correspondientes a plantas heliomórficas presentan actividad de AIA–asa a partir del comienzo del ensayo, para detenerse a la hora y media o antes.

En el caso de los extractos proteicos de las plantas heliomórficas, como ocurrió con los segmentos, muestran actividad desde el comienzo de los ensayos. Los correspondientes a las plantas normales no son activos y lógicamente no la adquieren, como ocurrió con los segmentos luego de un período de incubación.

Las causas por las cuales los segmentos de heliomórficas detienen su actividad de AIA son desconocidas pero podría tratarse de la síntesis de un inhibidor enzimático en presencia de AIA. De cualquier manera puede explicar la gran actividad del AIA en dichos segmentos de pecíolos.

Por otra parte la rápida actividad de AIA oxidasa en segmentos de plantas normales implica la oxidación del AIA y en consecuencia su menor actividad si las comparamos con los de las heliomórficas.

Es evidente que si bien aún es desconocido el papel que la AIA-asa juega en las diferencias entre plantas normales y heliomórficas, es fundamental. Por

GRAFICO V

Oxidación de AIA por segmentos de peciolos de plantas heliomórficas y normalas de «Tropaeolum majus».

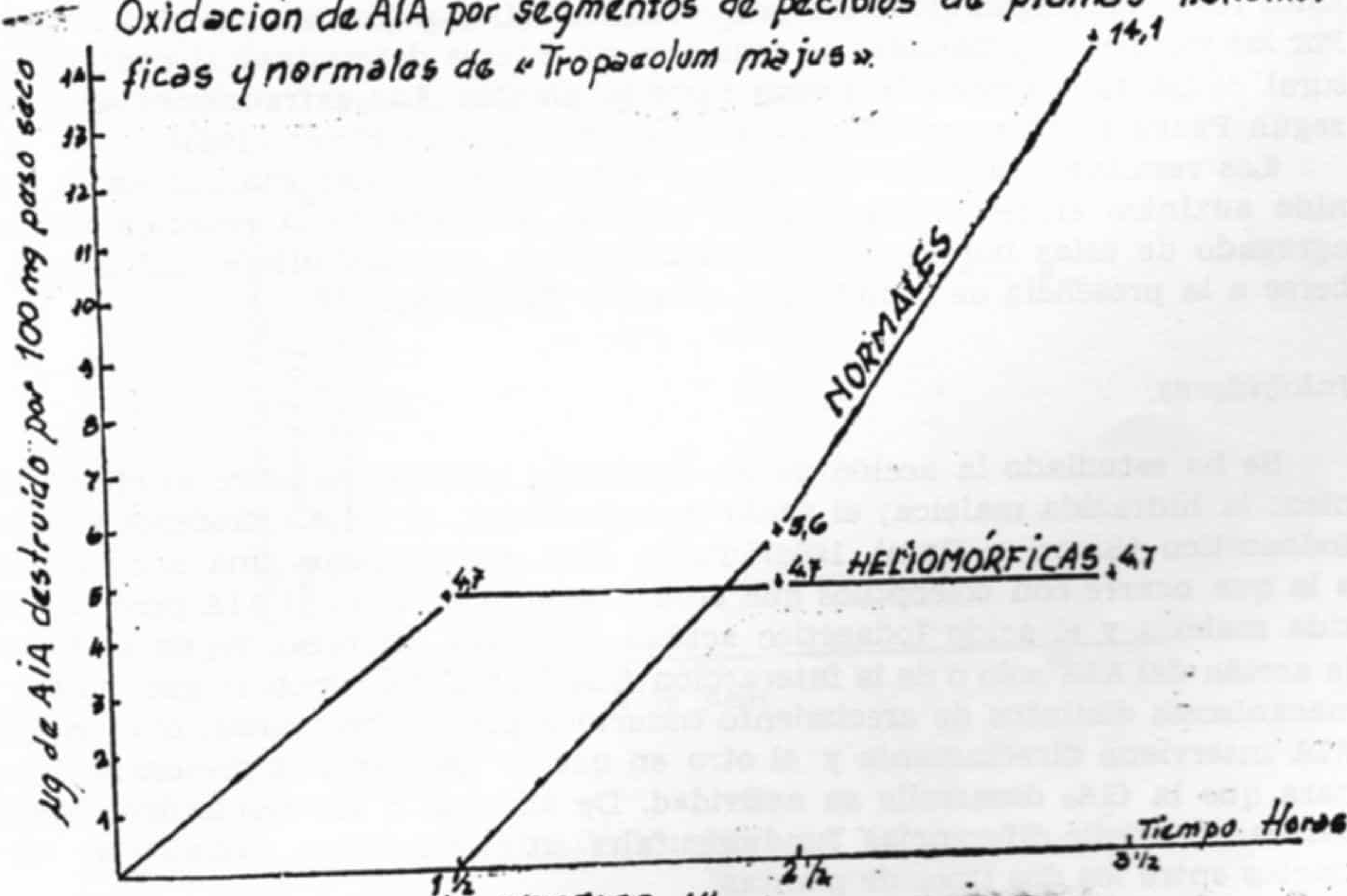
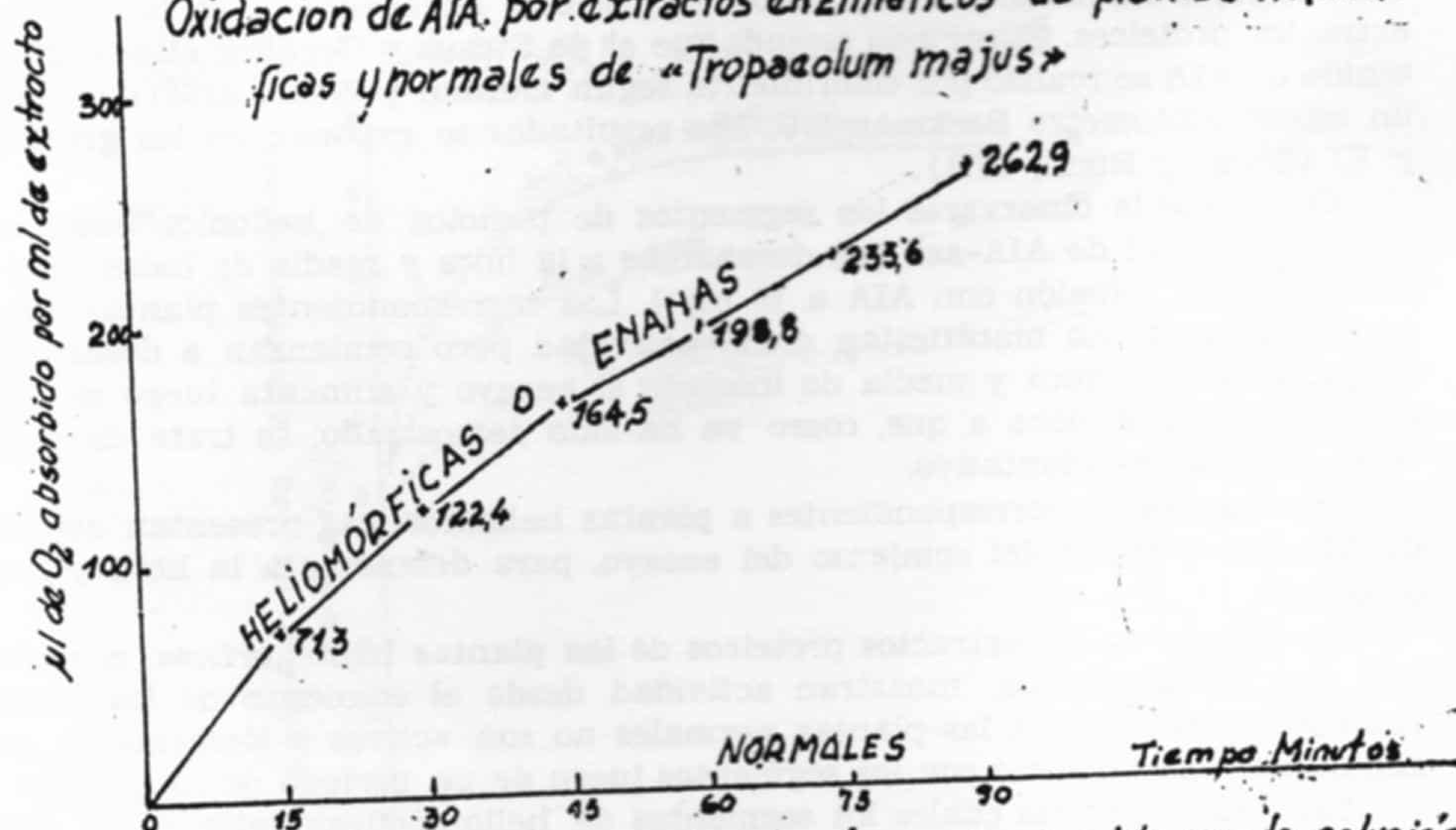


GRAFICO VI

Oxidación de AIA. por extractos enzimáticos de plantas heliomórficas y normales de «Tropaeolum majus»

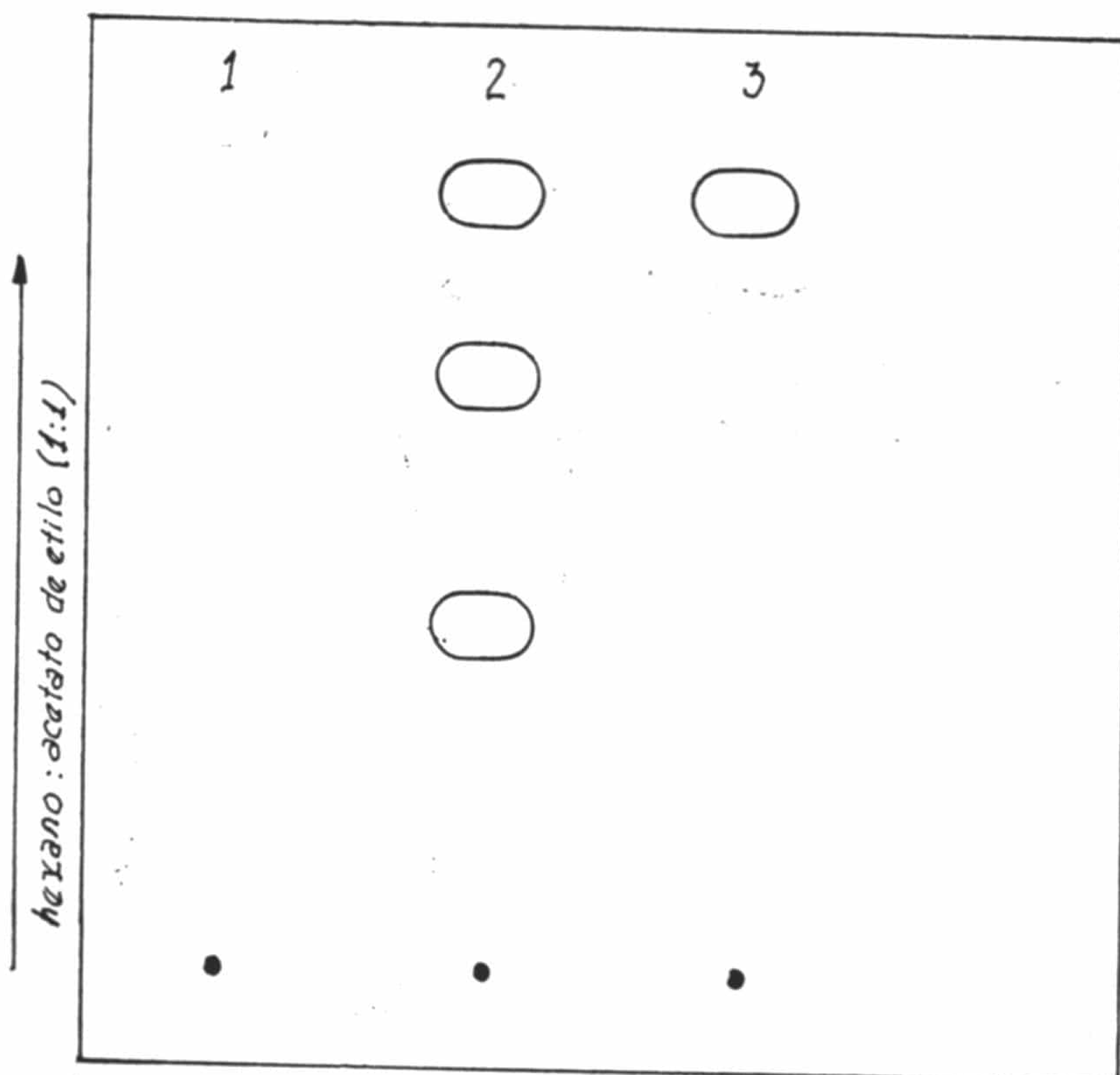


Referencias: La curva corresponde al oxigeno consumido por la solución proveniente de plantas heliomórficas. Los valores obtenidos con extractos de plantas normales fueron de 1,0; 0,9; 2,3; -0,1; 0,8; 2 cuyas variaciones puedan considerarse comprendidas dentro del error experimental.

otra parte el gran crecimiento de los segmentos de éstas en presencia de AIA indican una deficiencia auxínica que por lo tanto, presumiblemente, juega un papel determinante.

Inhibición de alfa amilasa: La actividad de alfa amilasa en cariopses de cebada está relacionada con la presencia de giberelina A_3, de manera que el contenido de glucosa derivada de la hidrólisis del almidón es una expresión de la actividad de la giberelina A_3 (Paleg, 1960). Con objeto de tener un dato cuantitativo de la actividad de esta hormona en los dos tipos de plantas estudiadas, se hicieron extracciones utilizando el método de Kato (1963). Luego se desarrolló una cromatografía sobre papel utilizando como solvente n-butanol: hidróxido de amonio. El papel se dividió en 10 partes que se utilizaron para determinar su influencia en la síntesis de alfa amilasa, medida por la reducción de azúcares por el método de Somogy-Nelson.

FIGURA I



Cromatografía capa delgada: 1 planta normal; 2 planta heliomórfica; 3 xantoxina cis-trans (patrón).

Los tratamientos fueron los siguientes: 1) Plantas heliomórficas, 2) plantas normales, 3) plantas heliomórficas a las que se les agregó 40 ug de GA_3.

En general las inhibiciones producidas por los extractos de heliomórficas con o sin GA_3 han sido mayores que aquellas producidas por las plantas norma-

les. El agregado de GA_3 ha disminuido y en algunos casos casi eliminado dicha inhibición. Estos resultados pueden ser interpretados en 3 formas. Una de ellas es considerar que los tejidos han destruido la GA_3 durante el proceso de extracción, la otra es que el extracto inhibe directamente la actividad de la alfa amilasa formada naturalmente o por agregado de GA_3 en los granos de cebada y la tercera es que impide su síntesis como lo hace el ácido abscísico (Sívori y Rumi, 1969).

Bioquímica:

De acuerdo a lo mencionado anteriormente las plantas heliomórficas desarrollan un proceso respiratorio menor, lo cual se observa tanto en el oxígeno consumido como en la emisión de anhídrido carbónico.

Estas diferencias sugieren una alteración del metabolismo en particular del ciclo de Krebs. En consecuencia se consideró necesario determinar el contenido de algunos ácidos como succínico, málico, cítrico y otros en los tejidos de ambas plantas (Sivori y Alaniz, 1971). La técnica utilizada permitió medir también la concentración de los ácidos ascórbico, galacturónico y glicérico. Los análisis se realizaron por medio de columnas de resina de intercambio aniónico equipado con un colector automático de fracciones. Los distintos ácidos fueron valorados volumétricamente y analizados cualitativamente por cromatografía en papel (Cherkin, Martínez y Dunn, 1953; Palmer, 1955). Los resultados se exponen en el cuadro II.

CUADRO II

Acidos orgánicos obtenidos de *Tropaeolum majus*, normales y heliomórficas por luz directa. Los distintos valores se expresan en micro equivalentes/g de peso seco.

Acido orgánico	Planta Heliomórfica	Planta Normal
Galacturónico, glucurónico y glicérico .	35,8	84,2
Succínico	3,9	20,4
Málico	423,6	478,1
Cítrico	275,5	68,1
Ascórbico	123,3	157,2

El conjunto de los ácidos glicéricos, galacturónico y glucurónico se presentan en doble contenido en las plantas normales con respecto a las heliomórficas. Los datos más interesantes son los obtenidos con el ácido cítrico que indican un contenido de 275,5 microequivalente/gramo en plantas heliomórficas comparado con 68.1 microequivalente en las plantas normales. Los ensayos cromatográficos previos ya señalaban la diferencia mencionada por el mayor diámetro e intensidad de las manchas.

El nivel de ácido málico y ácido succínico fue más elevado en las plantas normales.

Las diferencias obtenidas en los tres ácidos mencionados del ciclo de Krebs, indican evidentemente que deben reflejarse en los ácidos aminados y las proteinas.

Con ese objeto se realizó un estudio (Alaniz, 1971) de las proteínas totales brutas solubles en agua; la separación electroforética de éstas últimas y sus contenidos en ácidos aminados.

Se encontraron diferencias apreciables en los ácidos aminados con un descenso de 14 a 7.0 por ciento de lisina-arginina en las proteínas provenientes de plantas heliomórficas y un ligero aumento de 39,4 a 45,9 en alanina.

CUADRO III

CUADRO COMPARATIVO DE ACIDOS AMINADOS

	T. majus normal		*T. majus* heliom.	
	mg/g. p. seco	%	mg/g. p. seco	%
1. Acido glutámico	16,4	16,6	5,5	12,6
2. Acido aspártico	7,6	7,7	3,2	7,3
3. Lisina arginina	13,8	14,0	3,3	7,6
4. Histidina	—	—	—	—
5. Glicocola serina	6,5	6,6	3,3	7,6
6. Treonina	2,8	2,8	1,4	3,2
7. Alanina	39,0	39,3	20,0	45,9
8. Tirosina	2,1	2,1	1,3	3,0
9. Valina	4,1	4,2	1,8	4,1
10. Fenilalanina	6,6	6,7	3,8	8,7
	98,9	100,0	43,6	100,0

En lo que respecta a las proteínas totales el valor bajó de 23,8 % en las normales a 14,4 en las heliomórficas y en las solubles bajó de 7,30 a 3,56 en el mismo orden. La separación electroforética mostró diferencias cualitativas y cuantitativas.

También se realizaron determinaciones en ácidos aminados libres según Thompson y Steward, 1952; Ramírez de Guglielmone y Gómez, 1965. Los resultados indican que las plantas heliomórficas poseen un menor contenido de aminoácidos libres totales inferior en un 43% principalmente sobre la base del contenido de asparagina. Expresados los datos en porcentaje relativo de ácidos aminados, el de asparagina es de 38,7% en plantas normales y 18,7% en heliomórficas.

CUADRO IV

CUADRO COMPARATIVO DE ACIDOS AMINADOS

	T. majus normal		*T. majus* heliom.	
	mg/g. p. seco	%	mg/g. p. seco	%
1. Acido glutámico	3,82	10,71	3,12	15,56
2. Acido aspártico	1,30	3,65	0,55	2,69
3. Asparagina	13,78	38,65	3,82	18,69
4. Glutamina	0,51	1,43	0,34	1,66
5. Glicocola-serina	0,63	1,77	0,70	3,42
6. Alanina	14,29	40,07	10,60	51,86
7. Treonina	0,49	1,37	0,68	3,33
8. Metionina	0,65	1,82	0,43	2,10
9. Valina	0,19	0,53	0,14	0,69
SUMA	35,66	100,00	20,44	100,00

Por otra parte el contenido de alanina aumenta del 40 a casi el 50 % en en el mismo orden.

Se estudió el efecto de los ácidos orgánicos sobre la síntesis de los ácidos aminados en los dos tipos de plantas. El agregado de succinato eleva el contenido de asparagina en plantas heliomórficas a la luz y a la sombra en valores de un 93 y 78 % respectivamente con relación a las normales. El malato, el aconitato y el aspartato también lo hacen a luz en menor grado (Alaniz, y Sivori, 1973).

GRAFICO VII

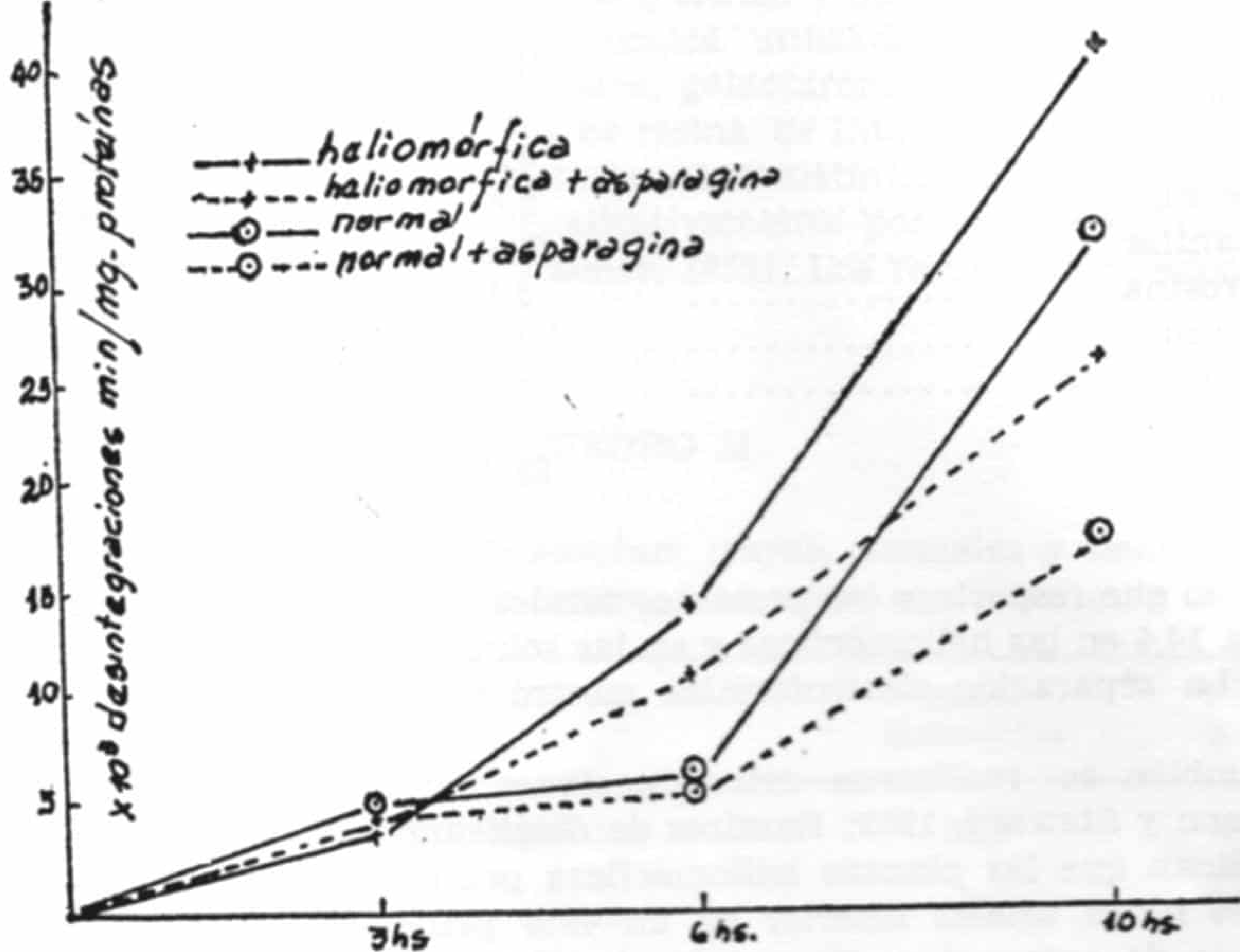
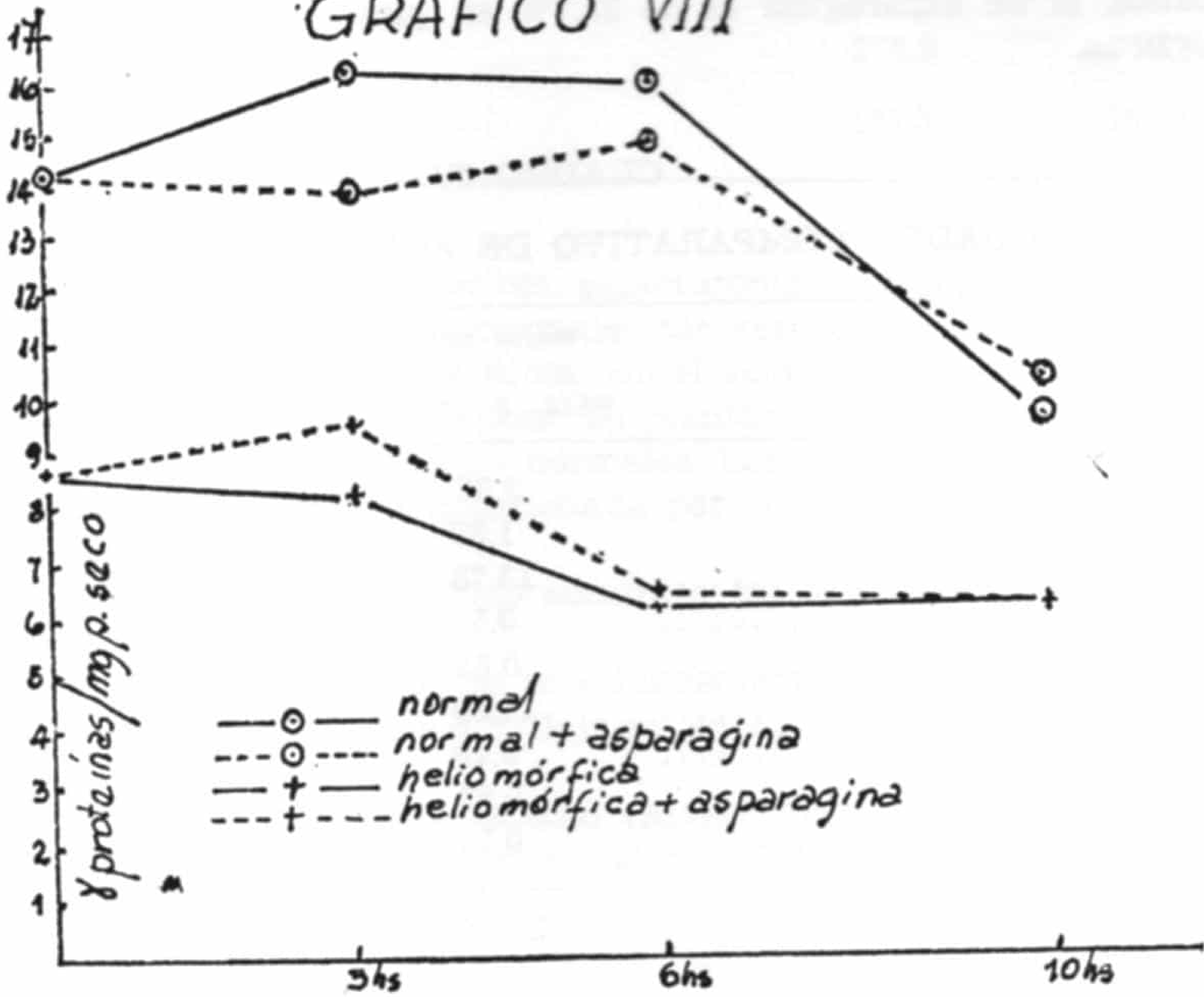


GRAFICO VIII



Cuando se agregó citrato en conjunto con succinato se inhibió la síntesis inducida por éste. Aspartato no indujo la síntesis de asparagina en oscuridad pero sí lo hizo a la luz hasta un 50 % del contenido de las plantas normales. El agregado de citrato a luz y de α-cetoglutarato y fumarato también a la luz y en oscuridad no indujeron la síntesis de asparagina. Estos últimos podrían no haber penetrado a la célula (Sívori y Alaniz, 1973).

Como expresamos anteriormente la evolución de las hojas, es más rápida en las plantas heliomórficas de manera que mueren antes. Lo habitual es que una planta normal tenga siete hojas verdes mientras que una heliomórfica sólo alcance a cinco. El estudio de los ácidos aminados de la 1ª, 3ª, 5ª y 7ª hojas de ambos tipos de plantas indica que los valores de los ácidos aminados solubles son menores que los insolubles y que ambos disminuyen con la ontogenia. Los valores correspondientes a plantas normales son más elevados que los de las heliomórficas.

De acuerdo a los datos que hemos mencionado con anterioridad, es evidente que entre otros procesos, en las plantas heliomórficas se encuentra alterado el metabolismo proteico y que de una manera u otra en él influye la asparagina. Con objeto de estudiar este proceso se realizó un estudio sobre la síntesis proteica, trabajando siempre con discos de hojas en pleno crecimiento y que fueron sometidos a soluciones con C^{14}-L-leucina y asparagina. La síntesis de proteína se evaluó por la incorporación de C^{14}-L-leucina y el contenido de proteínas totales por el método de Lowry. De ambos se dedujo la degradación. Los resultados pueden observarse en los gráficos VII y VIII.

Los resultados confirman el mayor contenido de proteínas en plantas normales expresada en por ciento de peso seco. Su evolución no marcó mayores diferencias entre los dos tipos de plantas. La incorporación de C^{14}-L-leucina fue diferente durante un breve lapso de tiempo a favor de las heliomórficas para luego evolucionar en una relación semejante.

Teniendo en cuenta el contenido de proteínas y la leucina incorporada como expresión de la síntesis proteica, se considera que la relación entre síntesis y degradación ha sido similar en ambos tipos de plantas.

El agregado de asparagina no cambió mayormente el contenido de proteínas pero disminuyó la síntesis, lo cual indica en consecuencia que la degradación disminuyó en una medida aproximadamente igual.

Si bien los estudios mencionados muestran diferencias fundamentales en la composición bioquímica como en algunos de los procesos que la determinan, es evidente que la luz no puede actuar directamente sobre ellos, sino, lo más probable, es que lo haga a través de una sustancia activa.

Como mencionamos con anterioridad, inhibidores del crecimiento cuya síntesis depende de la luz, son las xantoxinas. Por lo tanto se consideró de interés estudiar la posible presencia de éste inhibidor en las plantas heliomórficas o bien de algún otro regulador aún desconocido.

Con este objeto se siguió la técnica de extracción de Firn, Burden y Taylor (1972).

Los extractos presentaron poder inhibidor sobre la germinación de semillas de *Antirrhinum majus* y secciones de coleoptilos de trigo. Una alícuota del extracto fue separado por cromatografía en capa fina utilizando como patrón xantoxina suministrada por el Dr. Taylor. Los resultados indicaron la presencia de xantoxina sólo en las plantas heliomórficas cuyo Rf se determinó con luz ultravioleta.

Es evidente que, si bien la xantoxina puede intervenir en la inhibición del crecimiento de las plantas heliomórficas, la diversidad de la sintomatología manifestada por éstas, algunas de las cuales no coinciden con las mencionadas para este inhibidor, deben existir otros compuestos activos que lo acompañan en su acción y que se trata de determinar.

BIBLIOGRAFIA

ALANIZ, J., 1971. — Compuestos proteicos en plantas de Tropaeolum majus normales y enanizadas. *Rev. A. B. A.* 36 (194-195): 116-126.

— y E. SÍVORI, 1973. — Effect of organic acids on the synthesis of aminoacids in *Tropaeolum majus*. *Phyton* 31 (2): 123-126. XI.

ANSTIS, P.; J. FRIEND and D. GARDNER, 1975. — The role of xanthoxin in the inhibition of pea seedling growth by red light. *Phytochemistry*. 14: 31-35. Pergamos Press. Printed in England.

BRIAN, P. and H. HEMMING, 1957. *Nature*, London **179**: 417.

CHERKIN, A. F.; MARTÍNEZ, F. and M. DUNN, 1953. — An expression for gradient elution. *J. Ann. Chem. Soc.* **75**: 1244-1245.

FIRN, N.; R. BURDEN and H. TAYLOR, 1972. *Planta* (Berlín) **102**: 115-126.

GIESE, A. C., 1968. — *Photophysiology*. Academic Press.

GORDON, S. and R. WEBER, 1951. *Plant Physiology*. **26**: 192-195.

HENDRICKS, S. and H. BORTHWICK, 1963. — *Control of Plant Growth by Light. Environmental Control of Plant Growth*. Editeb by L. E. Evans. Chapter 14.

KATO, J., 1963. — *Regulateurs Naturales de la Croissance Vegetale. Collioques Internationaux du Centre Nationale de la Recherce Scientifique*, 275-287.

MOHR, H., 1962. — Primary Effects of Light on Growth. *Annual Review of Plant Physiology*. **13**.

PALEG, L. G., 1960. — *Plant Physiology*. **35** (3): 293-299.

PALMER, J., 1955. — Chemical Investigation of the tobacco Plant. *Connec. Agric. Exp. Stat.* (New Haven) Bulletin **589**, february.

PEACH, K. and M. V. TRACEY, 1955. — *Modern Method of Plant Analysis*. **3.**

RAMÍREZ DE GUGLIELMONE, A y C. GÓMEZ, 1965. — Valoración de aminoácidos en material biológico. *Rev. Asoc. Bioq. Argentina*. Año **30** (159): 178-187.

SMITH, H., 1975. — *Light and Plant Development. Butterworth.*

RUMI, C. y M. CARPINETTI, 1975. — Comunicaciones personal.

SIROIS, J., 1963. — *Canadian J. Bot.* **41**: 681-684.

SÍVORI, E. y C. RUMI, 1960. — Variación del crecimiento en segmentos de pecíolos de *Tropaeolum majus* provocado por la interacción de ácido giberélico y ácido indolacético. *Phyton*, **15** (2): 119-127. XII.

—; M. ESPONDA y C. RUMI, 1963. — Factores de crecimiento en meristemas intercalares de *Tropaeolum majus*. *Notas del Museo*. **20**, Botánica (95).

— y C. RUMI, 1966. — Inhibición del crecimiento auxínico y de su interacción con acido giberélico. *Rev. Fac. Agr.* 3ª época, t. **42** (entrega 1ra.).

— 1969. — Inhibición de la alfa amilasa por extracción de plantas de *Tropaeolum majus*. *Rev. Fac. Agr.* 3ra. época, t. **44**, entrega 2da.

— — 1971. — Aspectos fisiológicos de la enanización ecológica de *Tropaeolum majus* enanizadas por condiciones ecológicas. *Rev. Fac. Agr.* 3ra. época. t. **47**, (entrega 2da.).

— y J. ALANIZ, 1971. — Alteraciones metabólicas del ciclo de Krebs en plantas de *Tropaeolum majus* enanizadas por condiciones ecológicas. *Rev. Fac. Agr.* 3ra. época. **47** (entrega 2da.): 29-35.

— y J. ALANIZ, 1975. — Alteraciones metabólicas del ciclo de Krebs en plantas de *Tropaeolum majus* enanizadas por condiciones ecológicas. *Rev. Fac. Agr.* 3ra. Epoca, **47** (Entrega 1ra.): 29-35.

— — 1973. — Relationships between the dwarfing of Tropaeolum majus and asparagine synthesis. *Plant and Cell Physiol.* **14**: 653-659.

STELL, et al., 1965. — J. Biol. Chem. 240: 2612–1618.

STRAUS, J. and R. GERDING, 1963. — *Plant Physiology*. **38**, (6): 621-627.

TAYLOR, H. and T. SMITH, 1967. — Production of plant growth inhibition from xanthopylls. A possible source of dormin. Nature (London) **215**: 1513-1514.

— and R. BURDEN, 1970. — Identification of plant growth inhibitors produced by photolysis of violaxanthina. *Phytochemistry*, **9**: 2217-2223.

THOMPSON, J. and F. STEWARD, 1952. — The analysis of the alcohol insoluble nitrogen of plants by quantitative procedure based on paper chromatography. *J. J. Exptl. Botany* (3): 170-187.